Бактериология, 2026, том 11, №3, с. 68–74
Bacteriology, 2026, volume 11, No 3, p. 68–74

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-68-74

Разработка латексного иммунохроматографического теста для экспресс-выявления холерного токсина

А.Г.Королёва-Ушакова, Е.В.Баранова, А.Г.Шевяков, В.А.Яковлева, Е.А.Панфёрцев, Т.В.Решетняк, А.А.Баранова, А.Г.Волошин, А.А.Горбатов, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Российская Федерация

Холерный токсин является основным фактором патогенности холерного вибриона *Vibrio cholerae*. Диагноз холеры ставится на основании клинических симптомов и микробиологических исследований клинического материала. Однако в условиях низкой лабораторной оснащенности и территориальной удаленности от диагностических медицинских учреждений для предварительной диагностики целесообразно применение экспрессных тестов для прямого обнаружения холерного токсина. В данном исследовании мы предприняли попытку сконструировать иммунохроматографический тест, выявляющий холерный токсин за 15 мин. Для этого были получены оригинальные моноклональные антитела к рекомбинантной В-субъединице холерного токсина. Конъюгаты антител с латексными микросферами были использованы для конструирования экспериментальных тестов, выявляющих холерный токсин за 15 мин.

Ключевые слова: холерный токсин, белок CTXB, Vibrio cholerae, моноклональные антитела, иммунохроматографический тест, латексные микросферы

Для цитирования: Королёва-Ушакова А.Г., Баранова Е.В., Шевяков А.Г., Яковлева В.А., Панфёрцев Е.А., Решетняк Т.В., Баранова А.А., Волошин А.Г., Горбатов А.А., Бикетов С.Ф. Разработка латексного иммунохроматографического теста для экспресс-выявления холерного токсина. Бактериология. 2026; 11(3): 68–74. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-68-74

Development of a latex immunochromatographic test for the rapid detection of cholera toxin

A.G.Korolyova-Ushakova, E.V.Baranova, A.G.Shevyakov, V.A.Yakovleva, E.A.Panfertsev, T.V.Reshetnyak, A.A.Baranova, A.G.Voloshin, A.A.Gorbatov, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Russian Federation

Cholera toxin is the primary virulence factor of pathogenic *Vibrio cholerae* strains. A definitive diagnosis of cholera is established through microbiological analysis of clinical samples. However, in settings with limited laboratory facilities or significant distance from diagnostic medical centers, the use of rapid diagnostic tests is advantageous. In this study, we developed an immunochromatographic test system for the detection of cholera toxin using monoclonal antibodies raised against purified recombinant CTXB protein and conjugated to latex microspheres.

Key words: cholera toxin, белок CTXB, Vibrio cholerae, monoclonal antibodies, immunochromatographic test, latex microspheres

For citation: Korolyova-Ushakova A.G., Baranova E.V., Shevyakov A.G., Yakovleva V.A., Panfertsev E.A., Reshetnyak T.V., Baranova A.A., Voloshin A.G., Gorbatov A.A., Biketov S.F. Development of a latex immunochromatographic test for the rapid detection of cholera toxin. Bacteriology. 2026; 11(3): 68–74. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-68-74

Для корреспонденции:

Королёва-Ушакова Анжела Григорьевна, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0147

Статья поступила 01.09.2026, принята к печати 30.09.2026

For correspondence:

Anzhela G. Korolyova-Ushakova, Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 “Quarter A” Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147

The article was received 01.09.2026, accepted for publication 30.09.2026

Холера – острая диарейная инфекция, развивается в случае попадания токсигенных штаммов возбудителя *Vibrio cholerae* серогрупп O1 или O139 в организм с зараженными пищевыми продуктами или водой. При отсутствии лечения может за считаные часы закончиться смертельным исходом. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в мире ежегодно происходит от 1,3 до 4,0 млн случаев заражения холерой, включая 21 000–143 000 случаев со смертельным исходом [1].

V. cholerae классифицируется на основе различий в структуре О-антигена его липополисахарида. *V. cholerae* O1 делится на два основных серотипа: Инаба и Огава, которые различаются наличием одной метильной группы на полисахаридном антигене Огава-О. *V. cholerae* O1 также делится на два биотипа: Эль-Тор и классический; они различаются биохимическими особенностями и восприимчивостью к определенным бактериофагам [2].

Холерный токсин (ХТ) является основным фактором патогенности *V. cholerae*, который при взаимодействии с энтероцитами активирует внутриклеточную аденилатциклазу, что приводит к гиперсекреции жидкости в тонкий кишечник и вызывает резкое обезвоживание и потерю натрия, хлорида, бикарбоната и калия [3]. ХТ кодируется опероном ctxAB, который является частью генетического элемента CTX. ХТ, имеющий две субъединицы – A и B, представляет собой белок массой 84 кДа. Субъединица А отвечает за фенотип заболевания, в то время как субъединица В обеспечивает доставку субъединицы А к клеткам-мишеням путем катализа АДФ (аденозиндифосфат)-рибозилирования, что приводит к активации аденилатциклазы и повышению внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Повышение внутриклеточного уровня цАМФ приводит к нарушению усвоения натрия и увеличению оттока хлорида, вызывая выделение воды и диарею [4].

Для подтверждения диагноза холеры требуется комплекс лабораторных исследований [5]. Диагноз обычно ставится на основании культивирования возбудителя из клинического образца. *V. cholerae* можно выделить из клинического материала с использованием селективных сред, таких как тиосульфат-цитратный желчно-сахарозный агар или таурохолат-теллурит-желатиновый агар. После культивирования *V. cholerae* можно идентифицировать с помощью биохимических тестов; серогруппу и серотип можно определить с помощью тестирования со специфическими антителами [6]. Традиционные методы культивирования для выделения и идентификации *V. cholerae* могут занимать ≥3 дней, а также требуют хорошей лабораторной инфраструктуры и квалифицированного персонала. Данные факторы могут вызвать отсрочку постановки верного диагноза и иметь ряд последствий, включая неэффективные противоэпидемические меры, распространение заболевания, увеличение заболеваемости и смертности. Дополнительным полезным инструментом раннего выявления вероятных вспышек холеры являются диагностические экспресс-тесты. Одним из таких тестов является мембранный иммунохроматографический (ИХ) тест на основе моноклональных антител (МКА) к ХТ [7, 8]. Значимость данных тестов при масштабных обследованиях трудно переоценить благодаря высоким показателям чувствительности, специфичности, скорости получения результатов и, что немаловажно, возможности использования в отдаленных районах с ограниченными лабораторными ресурсами [9, 10].

Цель исследования: получить компоненты иммунохроматографического теста и сконструировать латексный иммунохроматографический тест для экспресс-выявления холерного токсина.

Материалы и методы

В работе использовали микробиологические, биохимические, иммунохимические методы, методы молекулярной биологии и гибридомной технологии. Материалом для исследований явились МКА к ХТ и конъюгаты этих антител с частицами латексных микросфер.

Получение гибридом-продуцентов моноклональных антител

Для получения МКА использовали самок мышей линии BALB/c в возрасте 6–8 нед. (массой 18–20 г), содержавшихся в виварии ФБУН ГНЦ ПМБ со свободным доступом к пище и воде. Мышей иммунизировали очищенным рекомбинантным белком rCTXB.

Конструирование штамма-продуцента субъединицы холерного токсина CTXB

Фрагмент ДНК размером 372 п.о., кодирующий синтез субъединиц CTXB, был получен амплификацией методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с ДНК-матрицы клинического штамма *V. cholerae* 569B и клонирован в составе экспрессирующего плазмидного вектора pET32b традиционным рестриктазно-лигазным методом таким образом, чтобы в результате работы получить 6-his-меченный на С-конце рекомбинантный CTXB-протеин. Штамм-продуцент рекомбинантного белка CTXB был получен трансформацией компетентных клеток штамма *Escherichia coli* BL21(DE3) [F– ompT hsdSB (rB– mB–) gal dcm (DE3)], несущего ген T7 РНК полимеразы под контролем ИПТГ-индуцибельного lacUV5 промотора (Novagen, США) рекомбинантной плазмидной ДНК pETCTXBNX. Рекомбинантный 6-his-меченный CTXb-протеин выделяли из индуцированной ИПТГ биомассы штаммов-продуцентов с последующей аффинной очисткой на металло-хелатном сорбенте. Очищенным рекомбинантным CTXB иммунизировали лабораторных животных.

Иммунизация животных

Первая инъекция включала 50 мкг антигена подкожно в эмульсии с полным адъювантом Фрейнда (Sigma, США). Последующие иммунизации проводили на 14-й и 28-й дни тем же количеством антигена в неполном адъюванте Фрейнда (Sigma, США). Титр специфических антител в сыворотке крови мышей оценивали методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) на 35-й день. Животному с наибольшим титром специфических антител за 3 дня до гибридизации внутривенно вводили бустерную дозу антигена – 10 мкг в стерильном фосфатно-солевом буфере (ФСБ).

Получение гибридом

Гибридизацию спленоцитов иммунизированной мыши с клетками мышиной миеломы линии Sp2/0-Ag14 проводили

по классическому методу Мильштейна и Келера с модификациями. Слияние клеток осуществляли в соотношении 5:1 (спленоциты:миелома) с использованием 50%-го раствора полиэтиленгликоля (ПЭГ 4000, Merc, США) в присутствии 5% диметилсульфоксида при температуре 37°С. После слияния клетки суспендировали в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), содержащей 20% эмбриональной телячьей сыворотки (FCS, HyClone, США), и высевали в 96-луночные культуральные планшеты. Селекцию гибридных клонов проводили в среде с добавлением ГАТ – селективной среде, содержащей 0,1 мМ гипоксантина, 0,4 мкм аминоптерина, 16 мкМ тимидина (Sigma, США).

Скрининг и клонирование специфических гибридом

Первичный скрининг антителопродуцирующих гибридом проводили на 10–14-й день после слияния методом непрямого ИФА. Для этого в лунки 96-луночного планшета (Nunc, Германия) сорбировали рекомбинантный rCTXB (10 мкг/мл в карбонатно-бикарбонатном буфере (КББ), pH 9,6). В качестве вторичных антител использовали козьи антитела против IgG мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена («ИМТЕК», Россия). Визуализацию проводили с использованием субстрата 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ).

Клетки из лунок, показавших максимальный оптический сигнал, клонировали методом предельных разведений не менее 2 раз до достижения 100%-й стабильности клонов. В результате была получена панель из 11 стабильных гибридом, секретирующих МКА к rCTXB. Изотипирование полученных МКА проводили с помощью коммерческого набора тест-полосок Mouse Monoclonal Antibody Isotyping Kit (Roche) согласно инструкции производителя.

Оценка специфичности МКА методом конкурентного ИФА

Для подтверждения способности полученных антител распознавать нативную форму CTXB проводили конкурентный ИФА. В лунки 96-луночных полистироловых планшетов (Nunc, Германия) сорбировали рекомбинантный rCTXB в концентрации 1 мкг/мл в КББ в течение ночи при 4°С. После трехкратной отмывки ФСБ свободные центры связывания блокировали 1%-м раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) в ФСБ-Твин 20 (1 ч, 37°С).

Параллельно в отдельных пробирках готовили смесь: тестируемые МКА в концентрации 0,01 мг/мл смешивали в соотношении 1:1 по объему с культуральным бульоном *V. cholerae* 569B, содержащим нативный CTX. В качестве отрицательного контроля ингибирования использовали смесь МКА со стерильным бульоном AKI. Смесь предварительно инкубировали в течение 30 мин при 37°С, после чего переносили в лунки планшета.

После инкубации (1 ч, 37°С) и интенсивной отмывки планшета детекцию связавшихся с твердой фазой МКА проводили с помощью козьих антител против IgG мыши, конъюгированных с пероксидазой хрена («ИМТЕК», Россия). Визуализацию ферментативной реакции проводили с использованием субстрата ТМБ. Критерием отбора служил эффект конкурентного ингибирования: специфичными к нативному антигену считались те клоны МКА, для которых наблюдалось достоверное снижение аналитического сигнала (“О” “П” _450) в присутствии бульона с нативным белком по сравнению с контрольными лунками.

Наработка, очистка и конъюгация моноклональных антител

Для наработки антител *in vivo* гибридомы культивировали в виде асцитных опухолей у мышей BALB/c, предварительно праймированных пристаном (Sigma, США). Очистку МКА из асцитной жидкости проводили методом аффинной хроматографии на колонке с Protein G-Sepharose (GE Healthcare, США). Чистоту полученных препаратов оценивали методом ДСН-ПААГ электрофореза; она составляла не менее 95%. Концентрацию белка определяли спектрофотометрически.

Для проведения «сэндвич»-ИФА очищенные МКА конъюгировали с сукцинимидным эфиром биотина (Sigma, США) согласно инструкции производителя.

Отбор пар антител для «сэндвич»-ИФА. Подбор оптимальной пары антител осуществляли методом комбинаторного скрининга всех полученных МКА. Захватывающие МКА сорбировали на планшете в концентрации 2 мкг/мл в КББ в течение ночи при 4°С. После блокирования свободных центров связывания 1%-м раствором БСА в лунки вносили серийные разведения rCTXB (от 100 до 0,01 нг/мл). В качестве детектирующих антител добавляли МКА, конъюгированные с биотином. Для проявления реакции добавляли конъюгат стрептавидин-ПХ («ИМТЕК», Россия). Визуализацию проводили с использованием субстрата ТМБ.

Критерием отбора оптимальной пары служило максимальное отношение полезного сигнала к фону и наименьший предел обнаружения (LOD). По результатам анализа была отобрана пара МКА: клон CH-G9 (захватывающее антитело) и клон CH-H2 (детектирующее антитело).

Конъюгация латексных частиц с антителами

Материалы: буферный раствор 0,1 М MES-T (морфолино-2-этансульфоновая кислота с Triton X-100) (PanReac lifesciences, Испания); 10 М NaOH (Applichem, Германия); Triton X100 (Applichem, Германия); Sulfo-NHS (N-гидроксисукцинимид) (Thermo scientific, США); EDC (N-этил-N'-(3-диметиламинопропил) карбодиимид) (Thermo scientific, США).

Подготовка латексных частиц. Перемешали на вортексе пробирку с частицами, отобрали 10 мкл в пробирку и добавили 500 мкл MES-T. Встряхнули в ультразвуковой ванне (Sunshine, Китай) и центрифугировали при 10 тыс. оборотов 10 мин (Eppendorf minispin, Германия). Супернатант отобрали и внесли 500 мкл свежего MES-T. Таким образом отмыли 2 раза, с осаждением на 10 тыс. оборотов 10 мин.

Активация латекса. К 500 мкл MES-T добавили ~2–3 мг EDC и столько же NHS, перемешали и добавили в отмытый латекс / тщательно ресуспендировали. Поместили в ротационный перемешиватель (Biosan Multi Bio RS–24, Латвия) на 30 мин. Отмывка латексных частиц от остатков карбодиимида. Дважды по 500 мкл MES-T на 10 тыс. оборотов 10 мин. Перед отмывкой использовали ультразвуковую ванну для устранения агрегации.

Конъюгация латексных частиц с антителами

На 10 мкл 4% суспензии латексных частиц взяли 50 мкл детектирующих антител клона CH-H2 (антител (100 мкг).

Инкубировали 2 ч в ротационном перемешивателе после осаждения в центрифуге на 10 тыс. оборотов – 10 мин. Добавили БСА (AppliChem, Германия) 0,1% от объема, инкубировали 1 ч на ротаторе. Отмыли буфером для коллоидного золота (10 Ммоль/л (pH 7,4) Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Helicon, Россия); 0,05% Tween-20 (AppliChem, Германия); 1% сахарозы («Химмед», Россия); 1% БСА; азид натрия (PanReac lifesciences, Испания)) по 500 мкл дважды.

Контроль пришивки антител

Контроль произвели на нитроцеллюлозной мембране с контрольной полосой, содержащей антивидовые антитела Goat anti Mouse IgG (0,8мг/мл) (Arista Biologicals, США). Нанесли латексные конъюгированные латексные частицы на стекловолоконную полоску и проверили с ФСБ (1 таблетка на 100 мл дистиллированной воды) («Экосервис», Россия). Если латекс задерживается в контрольной зоне, то конъюгирование проведено успешно. После второй отмывки добавили буфер для коллоидного золота с 1%-м БСА 500 мкл. Нанесли оптимальное количество на стекловолокно. Конечная концентрация: в 1мл буфера для коллоидного золота должно быть 1/100 от исходной концентрации (4%) латексных частиц.

Нанесение латексных частиц на нитроцеллюлозную мембрану

Для нанесения латексных частиц на стекловолоконную мембрану PT-R5 (MDI, Индия) использовали разведение частиц в соотношении 1:1 с буфером для коллоидного золота. Далее просушивали мембрану в климатической камере (Memmert, Германия).

Изготовление лабораторных образцов ИХ-теста

После подбора пар антител был сконструирован макет ИХ-теста. Для опытно-конструкторской работы был использован ряд нитроцеллюлозных мембран производства Advanced Microdevices, Индия. При помощи диспенсера для нанесения (Iso Flow, США) были сформированы контрольная и тестовая зоны на нитроцеллюлозной мембране с размером пор 15 мкм (MDI, Индия). В контрольную зону нанесли антитела Goat anti Mouse – 0,8 мг/мл; в тестовую – полученные захватывающие МКА клона CH-G9 в концентрации 1 мг/мл. Далее подклеили стекловолоконную мембрану с латексными частицами, принимающую и впитывающую мембраны (MDI, Индия). Нарезку полотна на тесты производили гильотинным нарезчиком (Kin Bio, Китай).

Проведение иммунохроматографического анализа

В полистирольный 96-луночный планшет для ИФА поместили культуральные жидкости (КЖ) токсинпродуцирующих штаммов холерного вибриона (*V. cholerae* 569B, *V. cholerae* El Tor 1181, *V. cholerae* El Tor 1264, *V. cholerae* El Tor 1263, *V. cholerae* 131, *V. cholerae* El Tor 1310, *V. cholerae* 201, *V. cholerae* 87, *V. cholerae* El Tor 200) и гетерологичных культур (*Vibrio parahaemolyticus* 188, *Vibrio vulnificus* 157, *E. coli* 52, *Shigella dysenteriae* 63/2, *Salmonella Typhimurium* 14) в количестве 100 мкл/лунка (рис. 1 А, Б). Далее произвели последовательные разведения КЖ ФСБ с цельной КЖ до 1/1280, разводя каждую последующую пробу в 2 раза.

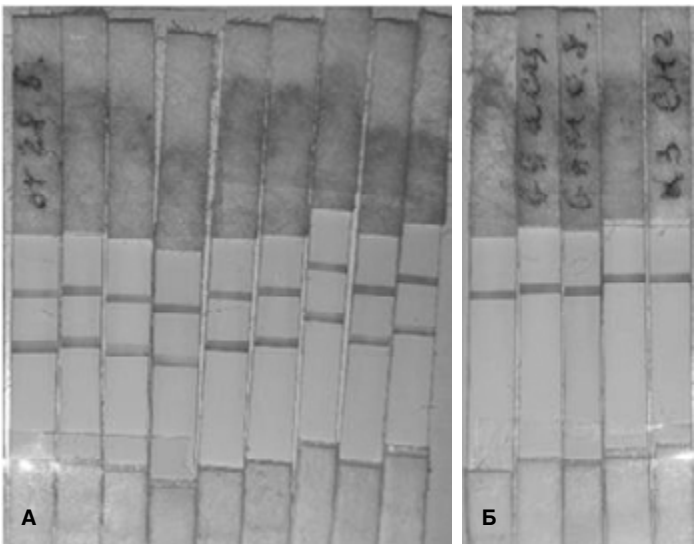


Рис. 1. **ИХ-тесты на основе наночастиц коллоидного золота. А – положительный контроль (слева направо: КЖ *V. cholerae* 569B, *V. cholerae* El Tor 1181, *V. cholerae* El Tor 1264, *V. cholerae* El Tor 1263, *V. cholerae* 131, *V. cholerae* El Tor 1310, *V. cholerae* 201, *V. cholerae* 87, *V. cholerae* El Tor 200). Б – отрицательный контроль (слева направо: КЖ *Vibrio parahaemolyticus* 188, *Vibrio vulnificus* 157, *Escherichia coli* 52, *Shigella dysenteriae* 63/2, *Salmonella* Typhimurium 14).**

Fig. 1. ***Immunochromatographic (IC) tests based on colloidal gold nanoparticles. A – positive control (from left to right: V. cholerae 569B, V. cholerae El Tor 1181, V. cholerae El Tor 1264, V. cholerae El Tor 1263, V. cholerae 131, V. cholerae El Tor 1310, V. cholerae 201, V. cholerae 87, V. cholerae El Tor 200). B – negative control (from left to right: Vibrio parahaemolyticus 188, Vibrio vulnificus 157, Escherichia coli 52, Shigella dysenteriae 63/2, Salmonella Typhimurium 14).***

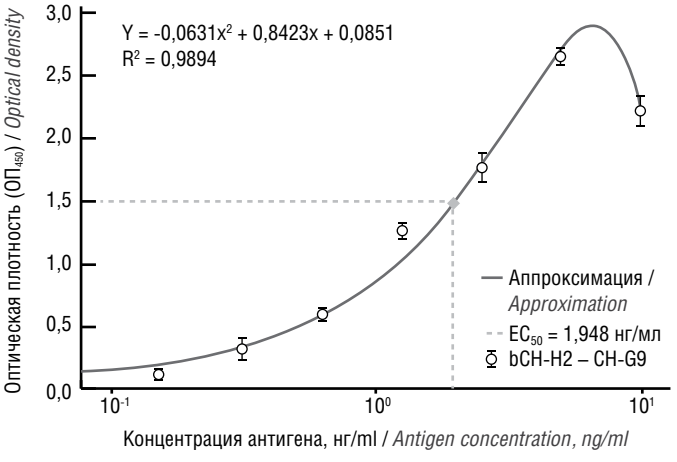


Рис. 2. **Титрование rCTXB в «сэндвич»-ИФА с МКА bCH-H2 и CH-G9.**

Fig. 2. ***Titration of rCTXB in a sandwich ELISA using mAbs bCH-H2 and CH-G9.***

Результаты сравнили с ИХ-тестами на основе коллоидного золота.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате иммунизации мышей BALB/c рекомбинантным rCTXB, последующей гибридизации иммунных спленоцитов с миеломными клетками и клонирования была получена панель стабильных гибридом, секретирующих специфические МКА. Для поиска оптимальной пары МКА провели

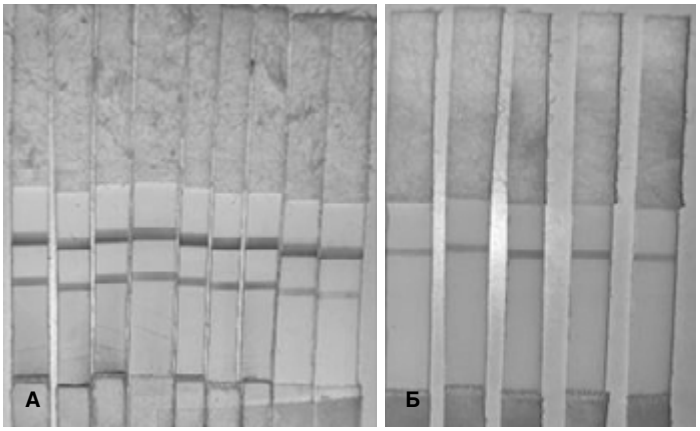


Рис. 3. **ИХ-тесты на основе латексных микросфер. А – положительный контроль (слева направо: КЖ *V. cholerae* 569B, *V. cholerae* El Tor 1181, *V. cholerae* El Tor 1264, *V. cholerae* El Tor 1263, *V. cholerae* 131, *V. cholerae* El Tor 1310, *V. cholerae* 201, *V. cholerae* 87, *V. cholerae* El Tor 200). Б – отрицательный контроль (слева направо: КЖ *Vibrio parahaemolyticus* 188, *Vibrio vulnificus* 157, *Escherichia coli* 52, *Shigella dysenteriae* 63/2, *Salmonella* Typhimurium 14).**
*Fig. 3. **IR tests based on latex microspheres: A – positive control (from left to right: QOL V. cholerae 569B, V. cholerae El Tor 1181, V. cholerae El Tor 1264, V. cholerae El Tor 1263, V. cholerae 131, V. cholerae El Tor 1310, V. cholerae 201, V. cholerae 87, V. cholerae El Tor 200). B – negative control (from left to right: QOL Vibrio parahaemolyticus 188, Vibrio vulnificus 157, Escherichia coli 52, Shigella dysenteriae 63/2, Salmonella Typhimurium 14).***

комбинаторный скрининг всех очищенных МКА. По критерию максимального отношения специфического сигнала к фону была отобрана оптимальная пара: клон CH-G9 использован в качестве иммобилизованного («захватывающего») антитела, а клон CH-H2 – в качестве детектирующего.

Тестирование в «сэндвич»-ИФА показало, что система на основе выбранных МКА характеризовалась низким уровнем неспецифического фонового связывания (оптическая плотность (ОП) нулевого стандарта составила 0,076 ± 0,018 ед.). Аппроксимация кривой титрования квадратичной полиномиальной моделью с высокой степенью достоверности (R2 = 0,9894) показала зависимость вида:

$Y = -0{,}0631x^2 + 0{,}8423x + 0{,}0851$.

Использование квадратичной функции позволило корректно описать дозозависимый отклик системы, включая эффект прозоны (хук-эффект), наблюдаемый при избытке антигена (рис. 2).

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения, LOD) разрабатываемой тест-системы в формате «сэндвич»-ИФА составила 0,15 нг/мл. Концентрация полумаксимального связывания (EC50) составила 1,95 нг/мл (при $ОП_{450}$ = 1,486).

Отобранную пару МКА далее использовали для получения ИХ-тестов. По результатам ИХ-анализа бульонов бактериальных культур было установлено, что тесты на основе как наночастиц коллоидного золота, так и латексных микросфер обладают идентичной специфичностью (100%). Тест-полоски давали положительный результат (окрашивание контрольной и тестовой зон) при использовании КЖ, содержащих ХТ, и демонстрировали отсутствие сигнала (окрашивалась только контрольная зона) при анализе гетерологичных КЖ (рис. 1, 3).

Сравнительный анализ показал высокую специфичность разработанных тест-систем. При оценке чувствительности было выявлено, что тесты на основе коллоидного золота и латексных микросфер обладают сопоставимыми аналитическими характеристиками при разведении КЖ (рис. 4 А, Б). Предел обнаружения ХТ составил 12,5 ± 2,0 нг/мл (*N* = 20).

В 2021 г. исследователями был проведен систематический обзор и метаанализ исследований, в которых оценивались экспресс-тесты на холеру для выявления *V. cholerae* O1 в сравнении с культуральным исследованием кала или ПЦР. В них оценивались 8 экспресс-тестов на холеру (Crystal VC-O1, Crystal VC, Cholkit, тест-полоска для выявления холеры Института Пастера, SD Bioline, Artron, Cholera Smart O1 и Smart II Cholera O1). Исходя из литературных данных, концентрация токсина в стуле пациентов варьируются от 26 до >100 нг/мл [11]. При сопоставлении характеристик нашей разработки с коммерческим тестом CT-IC [7, 8], используемым для мониторинга токсигенных штаммов *V. cholerae*, следует отметить, что аналитические параметры полученного нами теста являются сопоставимыми.

Заключение

Поскольку холерный токсин является причиной большинства симптомов, вызываемых инфекцией *V. cholerae*, его обнаружение имеет решающее значение для диагностики заболевания. В данной работе описана ИХ-тест-система для обнаружения ХТ с использованием МКА, конъюгированных с латексными микросферами. Предел детекции составил 12,5 нг/мл, что позволяет использовать данную систему в рутинной лабораторной практике для мониторинга вспышек инфекции. Дальнейшие этапы работы будут

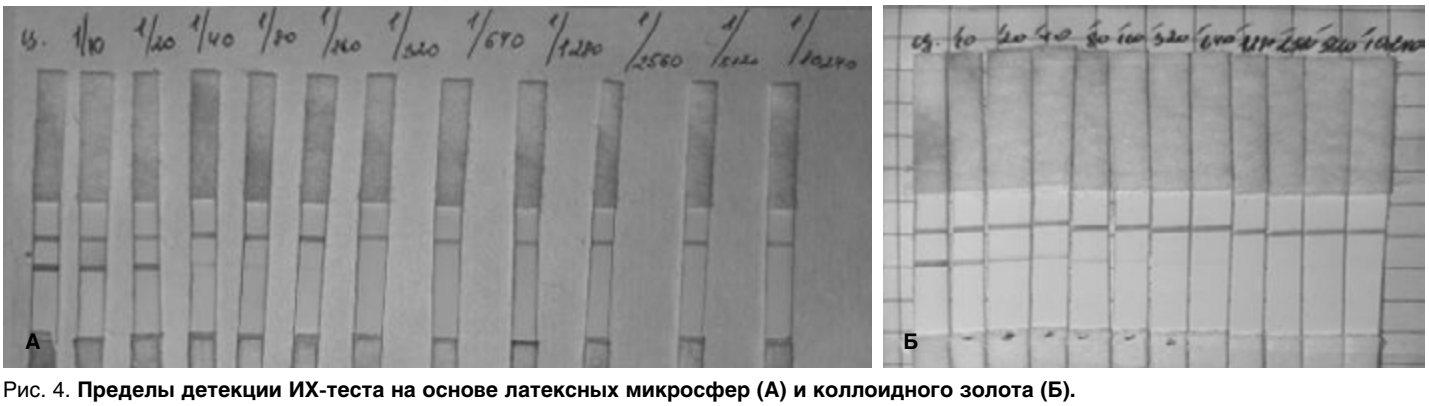


Рис. 4. **Пределы детекции ИХ-теста на основе латексных микросфер (А) и коллоидного золота (Б).**
*Fig. 4. **Detection limits of an immunochromatographic test based on latex microspheres (A) and colloidal gold (Б).***

направлены на повышение аналитической чувствительности и адаптацию теста для прямого тестирования клинических образцов.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках СЩ_3 по Госзаданию в Государственном научном центре прикладной микробиологии и биотехнологии на уникальной научной установке ФБУН ГНЦ ПМБ.

Funding

The work was carried as part of SS_3 under a State Assignment at the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology ona unique scientific facility of the SRCAMB.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Все авторы подтверждают равное участие на всех этапах подготовки рукописи: разработка концепции, получение и анализ данных, написание и редактирование текста.

Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Author contributions

All authors contributed equally to this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

All authors have read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. WHO. [Electronic resource]. Available at: https://www.who.int/ru/news/item/12-09-2025-cholera-kills-more-people-for-second-consecutive-year-while-revention-and-treatment-available (accessed 18.09.2026).
2. Chowdhury F, Ross AG, Islam MT, McMillan NAJ, Qadri F. Diagnosis, Management, and Future Control of Cholera. Clin Microbiol Rev. 2022 Sep 21;35(3):e0021121. DOI: 10.1128/cmr.00211-21
3. Molla AM, Rahman M, Sarker SA, Sack DA, Molla A. Stool electrolyte content and purging rates in diarrhea caused by rotavirus, enterotoxigenic *E. coli*, and *V. cholerae* in children. J Pediatr. 1981 May;98(5):835-8. DOI: 10.1016/s0022-3476(81)80863-3
4. Shimada T, Arakawa E, Itoh K, Okitsu T, Matsushima A, Asai Y, et al. Extended serotyping scheme for *Vibrio cholerae*. Curr Microbiol. 1994;28:175-178. DOI: 10.1007/BF01571061
5. Kanungo S, Azman AS, Ramamurthy T, Deen J, Dutta S. Cholera. Lancet. 2022 Apr 9;399(10333):1429-1440. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00330-0
6. World Health Organization: Department of Communicable Disease Surveillance and Response. Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World. 2003:103. [Electronic resource]. Available at: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-CSR-RMD-2003.6 (accessed 18.09.2026).
7. Yamasaki E, Sakamoto R, Matsumoto T, Morimatsu F, Kurazono T, Hiroi T, et al. Development of an immunochromatographic test strip for detection of cholera toxin. Biomed Res Int. 2013;2013:679038. DOI: 10.1155/2013/679038
8. Yamasaki E, Sakamoto R, Matsumoto T, Maiti B, Okumura K, Morimatsu F, et al. Detection of Cholera Toxin by an Immunochromatographic Test Strip. Methods Mol Biol. 2017;1600:1-7. DOI: 10.1007/978-1-4939-6958-6_1
9. Kalluri P, Naheed A, Rahman S, Ansaruzzaman M, Faruque AS, Bird M, et al. Evaluation of three rapid diagnostic tests for cholera: does the skill level of the technician matter? Trop Med Int Health. 2006 Jan;11(1):49-55. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2005.01539.x
10. Boum Ii Y, Fai KN, Schramm B, Corine TM, Tchiasso D, Essomba R, et al. Decentralised rapid diagnostic tests enable cholera diagnosis by non-laboratory health workers during outbreaks in Cameroon. Sci Rep. 2026 Jun 3;16(1):25215. DOI: 10.1038/s41598-026-55479-9
11. Muzembo BA, Kitahara K, Ohno A, Debnath A, Okamoto K, Miyoshi SI. Cholera Rapid Diagnostic Tests for the Detection of *Vibrio cholerae* O1: An Updated Meta-Analysis. Diagnostics (Basel). 2021 Nov 13;11(11):2095. DOI: 10.3390/diagnostics11112095

Информация о соавторах:

Баранова Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-6455-5756

Шевяков Антон Георгиевич, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-0504-7073

Яковлева Вера Александровна, младший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Панфёрцев Евгений Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-6778-934X

Решетняк Татьяна Викторовна, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Баранова Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Волошин Александр Григорьевич, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Горбатов Алексей Александрович, кандидат медицинских наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-0799-893X

Бикетов Сергей Фёдорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-1179-6895

Information about co-authors:

Evgenia V. Baranova, PhD, MD, Leading Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-6455-5756

Anton G. Shevyakov, Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-0504-7073

Vera A. Yakovleva, Junior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Evgeny A. Panfertsev, PhD, MD, Senior Researcher, Department of Immunobiochemistry, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-6778-934X

Tat'ana V. Reshetnyak, Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Anastasia A. Baranova, Junior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

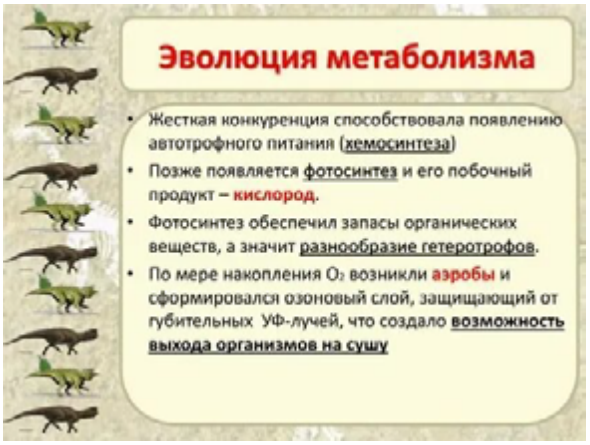
Alexander G. Voloshin, Senior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Alexey A. Gorbatov, PhD, MD, Deputy Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-0799-893X

Sergey F. Biketov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-1179-6895

НОВОСТИ НАУКИ

Ранняя эволюция метаболизма



Возникновение жизни потребовало появления метаболизма – автокаталитической сети ферментативных реакций, синтезирующих аминокислоты, нуклеотиды и кофакторы. В момент зарождения метаболизма не существовало ферментов – как же он начался? Эмпирических исследований, посвященных ранней эволюции метаболизма, не хватает. Используя структуры белков для изучения метаболических ферментов, мы идентифицируем промежуточные состояния в первоначальной сборке метаболизма. Мы показываем, что ферментативный метаболизм у универсального общего предка был неполным и завершил свою сборку независимо в линиях, ведущих к бактериям и археям. Нативные переходные металлы – железо, кобальт, никель и палладий – служили каталитическими предшественниками как ферментов, так и кофакторов в момент зарождения метаболизма, в то время как фосфит обеспечивал энергию, поскольку он фосфорилирует аденозин-5′-монофосфат до аденозина-5′-дифосфата и серин до фосфосерина с использованием нативных металлических катализаторов в воде. Фосфит и нативные металлы встречаются в серпентинизирующих гидротермальных системах, что позволяет определить место зарождения метаболизма как источник энергии и каталитический центр. Кофакторы освободили зарождающийся метаболизм от зависимости от нативных металлических катализаторов, обеспечив его автокаталитическое состояние.

Hoffmann NK, Schlikker ML, Martin WF.
Metal-catalyzed phosphorylation by phosphite and energy at origins.
Biochim Biophys Acta Bioenerg. 2026 Sep 11;1868(1):149610. DOI: 10.1016/j.bbabio.2026.149610